

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2002 年 2 月 21 日 (21.02.2002)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 02/13864 A1

(51) 国際特許分類: A61K 45/00, 31/427, 31/4439, 31/422,  
31/421, 31/426, 31/202, 31/192, 31/455, A61P 35/00 //  
C07D 417/12, 471/04, 417/04, 413/12, 277/34, 263/32

(KURAKATA, Shinichi) [JP/JP]. 藤原 康策 (FUJI-  
WARA, Kosaku) [JP/JP]. 島崎 尚美 (SHIMAZAKI,  
Naomi) [JP/JP]. 藤田 岳 (FUJITA, Takashi) [JP/JP];  
〒140-8710 東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株  
式会社内 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/07037

(22) 国際出願日: 2001 年 8 月 15 日 (15.08.2001)

(74) 代理人: 中村 稔, 外 (NAKAMURA, Minoru et al.);  
〒100-8355 東京都千代田区丸の内3丁目3番1号 新東  
京ビル Tokyo (JP).

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(81) 指定国 (国内): AU, BR, CA, CN, CO, CZ, HU, ID, IL,  
IN, KR, MX, NO, NZ, PL, RU, SG, SK, US, ZA.

(30) 優先権データ:  
特願2000-246910 2000 年 8 月 16 日 (16.08.2000) JP

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,  
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 三共株  
式会社 (SANKYO COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒  
103-8426 東京都中央区日本橋本町3丁目5番1号 Tokyo  
(JP).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

(72) 発明者; および

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 蔵方 慎一

(54) Title: MEDICINAL COMPOSITIONS FOR PREVENTING AND TREATING CANCER

(54) 発明の名称: 癌を予防及び治療するための医薬組成物

(57) Abstract: Medicinal compositions for preventing or treating cancer wherein one or more PPAR  $\gamma$  activation agonists and one or more RXR activation agonists are used simultaneously or successively.

(57) 要約:

本発明は、癌を予防又は治療するための、1種又は2種以上のPPAR $\gamma$ 活性化作  
用剤及び1種又は2種以上のRXR活性化作用剤とを同時に又は逐次的に使用する  
ことによる、医薬組成物である。

WO 02/13864 A1

## 明 細 書

## 癌を予防及び治療するための医薬組成物

## (技術分野)

本発明は、癌(特に、人間の癌)を予防及び治療するための、1種又は2種以上のPPAR(ペルオキシソーム・プロリフェレーター・アクティベイテッド・レセプター)γ活性化作用剤及び1種又は2種以上のRXR(レチノイドX受容体)活性化作用剤とを同時に又は逐次的に使用することによる、医薬組成物に関する。

## (背景技術)

W098/29120号公報には、PPARγ活性化作用剤としてのピオグリタゾン単独投与、RXR活性化作用剤としてのLG100268単独投与及び両者の併用投与の、脂肪細胞の分化に対する効果実験が記載されている。しかし、当該実験はあくまで細胞分化促進作用を測定しているものであり、かつ、ピオグリタゾンの単独投与量は1μM、LG100268の単独投与量は50nMであるのに対して、両者の併用投与においてはピオグリタゾン投与量は5μM及びLG100268投与量は50nMと、併用効果を測定できる実験系となっていない。また、当該公報には、ピオグリタゾンとLG100268との併用投与による脂肪肉腫細胞の分化促進作用実験も記載されているが、本実験も分化促進作用を測定しているのみである。当該公報に対して、本発明は、本発明に係る化合物の癌に対する効果を癌細胞の増殖抑制効果として直接実験により明らかにしており、かつ、PPARγ活性化作用剤とRXR活性化作用剤との併用によるヒト癌細胞の増殖抑制効果が、それぞれの単独投与に比べて顕著に優れていることを示したものである。

また、当該公報には、PPARγ活性化作用剤として、具体的にはロジグリタゾン(

BRL49653)、トログリタゾン及びヒオグリタゾンが記載されているが、本発明に用いられるPPAR $\gamma$ 活性化作用剤は、これらの化合物よりもPPAR $\gamma$ 活性化作用が顕著に強いものである。

(発明の開示)

本発明者らは、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤とRXR活性化作用剤を併用することにより癌細胞の増殖抑制効果が増強されることを見出した。即ち、優れたPPAR $\gamma$ 活性化作用を有する化合物の発案・合成を行い、このPPAR $\gamma$ 活性化作用剤とRXR活性化作用剤を併用することにより、各単剤投与での腫瘍増殖抑制効果を更に増強させることを見出し、これら併用による癌を予防又は治療するための医薬組成物としての本発明を完成した。

本発明は、癌(特に、人間の癌)を予防及び治療するための、1種又は2種以上のPPAR $\gamma$ 活性化作用剤及び1種又は2種以上のRXR活性化作用剤とを同時に又は逐次的に使用することによる、医薬組成物である。

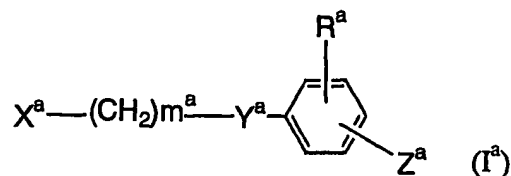
本発明の一方の有効成分であるPPAR $\gamma$ 活性化作用剤は、核内レセプタースーパーファミリーに属するPPAR $\gamma$ のリガンドとしてPPAR $\gamma$ を活性化するものであり、チアゾリジンジオン構造を特徴とし、従来は糖尿病の治療剤として使用されていたものである。

そのようなPPAR $\gamma$ 活性化作用剤としては、代表的なものとして、例えば特開平7-330728号公報、特開平9-295970号公報、特開平11-193276号公報、W095/18125号公報、特開平6-247945号公報、W097/31907号公報、及び特開平9-48771号公報に記載されている化合物を挙げることができる。

本発明の有効成分であるPPAR $\gamma$ 活性化作用剤としては、以下の化合物を挙げることができる。

(A) 特開平7-33028号公報に記載されている、

一般式(I<sup>a</sup>)

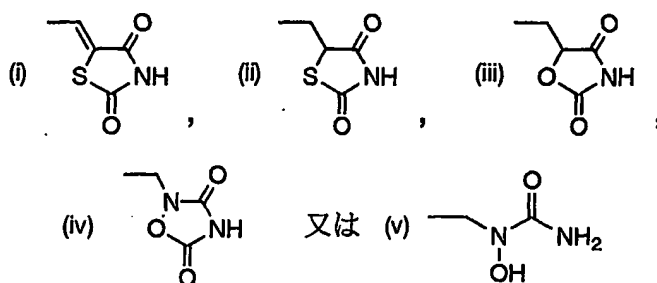


[式中、

X<sup>a</sup>は、インドール環基(後述する置換分α<sup>a</sup>を1乃至3個有していてもよい。)、インドリン環基(後述する置換分α<sup>a</sup>を1乃至3個有していてもよい。)、アザインドール環基(後述する置換分α<sup>a</sup>を1乃至3個有していてもよい。)、アザインドリン環基(後述する置換分α<sup>a</sup>を1乃至3個有していてもよい。)、イミダゾピリジン環基(後述する置換分α<sup>a</sup>を1乃至3個有していてもよい。)、又はイミダゾピリミジン環基(後述する置換分α<sup>a</sup>を1乃至3個有していてもよい。)を示す。

Y<sup>a</sup>は、酸素原子または硫黄原子を示す。

Z<sup>a</sup>は、化学構造式



で表される基を示す。

R<sup>a</sup>は、水素原子、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、アミノ基(後述する置換分β<sup>a</sup>を有していてもよい)、又はC<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>アラルキル基を示す。

m<sup>a</sup>は1乃至5の整数を示す。

置換分α<sup>a</sup>は、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基、ベンジルオキシ基、ハ

ロゲン原子、水酸基、アセトキシ基、フェニルチオ基、 $C_1$ - $C_4$ アルキルチオ基、トリフルオロメチル基、ニトロ基、アミノ基(後述する置換分 $\beta^a$ を有していてもよい)、 $C_6$ - $C_{10}$ アリール基(後述する置換分 $\gamma^a$ を有していてもよい。)、及び  $C_7$ - $C_{11}$ アラルキル基(後述する置換分 $\gamma^a$ を有していてもよい。)からなる群から選択される基を示す。

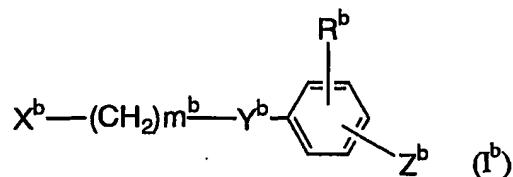
置換分 $\beta^a$ は、 $C_1$ - $C_8$ アルキル基、 $C_7$ - $C_{11}$ アラルキル基、 $C_6$ - $C_{10}$ アリール基、 $C_1$ - $C_{11}$ 脂肪族アシル基、 $C_8$ - $C_{12}$ 芳香脂肪族アシル基、及び  $C_7$ - $C_{11}$ 芳香族アシル基からなる群から選択される基を示す。

置換分 $\gamma^a$ は、 $C_1$ - $C_4$ アルキル基、 $C_1$ - $C_4$ アルコキシ基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、フェニル基、トリフルオロメチル基、及びアミノ基(置換分 $\beta^a$ を有していてもよい。)からなる群から選択される基を示す。]

を有する複素環化合物及びその塩。

(B) 特開平 9-295970 号公報に記載されている、

一般式(I<sup>b</sup>)

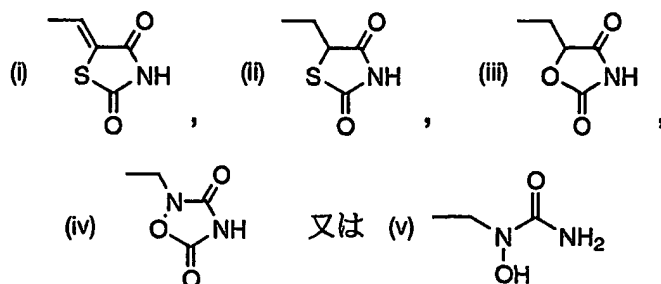


[式中、

$X^b$ は、ベンズイミダゾール環基(後述する置換分 $\alpha^b$ を1乃至5個有していてもよい。)を示す。

$Y^b$ は、酸素原子または硫黄原子を示す。

Z<sup>b</sup>は、化学構造式



で表される基を示す。

R<sup>b</sup>は、水素原子、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、アミノ基(後述する置換分β<sup>b</sup>を有していてもよい)、又はC<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>アラルキル基を示す。

m<sup>b</sup>は1乃至5の整数を示す。

置換分α<sup>b</sup>は、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基、ベンジルオキシ基、ハロゲン原子、水酸基、アセトキシ基、フェニルチオ基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルチオ基、トリフルオロメチル基、ニトロ基、アミノ基(後述する置換分β<sup>b</sup>を有していてもよい)、C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>アリール基(後述する置換分γ<sup>b</sup>を有していてもよい。)、及びC<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>アラルキル基(後述する置換分γ<sup>b</sup>を有していてもよい。)からなる群から選択される基を示す。

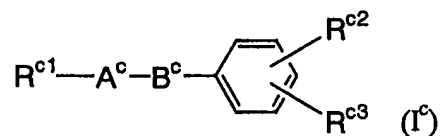
置換分β<sup>b</sup>は、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>アルキル基、C<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>アラルキル基、C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>アリール基、C<sub>1</sub>-C<sub>11</sub>脂肪族アシル基、C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>芳香脂肪族アシル基、及びC<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>芳香族アシル基からなる群から選択される基を示す。

置換分γ<sup>b</sup>は、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、フェニル基、トリフルオロメチル基、及びアミノ基(置換分β<sup>b</sup>を有していてもよい。)からなる群から選択される基を示す。]

を有する縮合複素環化合物及びその塩。

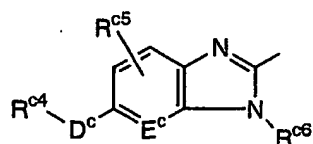
(C) 特開平 11-193276 号公報に記載されている、

一般式(I<sup>c</sup>)

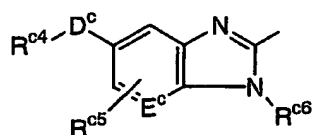


[上記式中、

R<sup>c1</sup>は、一般式



又は一般式



[式中、

R<sup>c4</sup>は、フェニル基(後述する置換分 $\alpha^\circ$ を1乃至5個有していてもよい。)又は  
ピリジル基(後述する置換分 $\alpha^\circ$ を1乃至4個有していてもよい。)を示す。

R<sup>c5</sup>は、水素原子又は後述する置換分 $\alpha^\circ$ を示す。

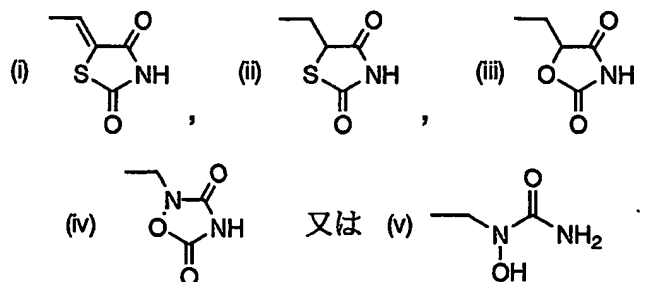
R<sup>c6</sup>は、水素原子、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>アルキル基、C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>アリール基(後述する置換分 $\beta^\circ$   
を1乃至3個有していてもよい。)又はC<sub>7</sub>-C<sub>16</sub>アラルキル基(後述する置換分 $\beta^\circ$   
を1乃至3個有していてもよい。)を示す。

D<sup>c</sup>は、酸素原子又は硫黄原子を示す。

E<sup>c</sup>は、=CH-基又は窒素原子を示す。]を有する基を示す。

R<sup>c2</sup>は、水素原子又は後述する置換分 $\alpha^\circ$ を示す。

$R^{c3}$ は、化学構造式



で表される基を示す。

$A^\circ$ は、 $C_1$ - $C_6$ アルキレン基を示す。

$B^\circ$ は、酸素原子又は硫黄原子を示す。

置換分 $\alpha^\circ$ は、ハロゲン原子、水酸基、 $C_1$ - $C_6$ アルキル基、ハロゲン $C_1$ - $C_6$ アルキル基、 $C_1$ - $C_6$ アルコキシ基、 $C_1$ - $C_6$ アルキルチオ基、アミノ基(後述する置換分 $\gamma^\circ$ を有していてもよい。)、 $C_3$ - $C_{10}$ シクロアルキル(後述する置換分 $\beta^\circ$ を1乃至3個有していてもよい。)、 $C_6$ - $C_{10}$ アリール(後述する置換分 $\beta^\circ$ を1乃至3個有していてもよい。)、 $C_7$ - $C_{16}$ アラルキル(後述する置換分 $\beta^\circ$ を1乃至3個有していてもよい。)、 $C_6$ - $C_{10}$ アリールオキシ(後述する置換分 $\beta^\circ$ を1乃至3個有していてもよい。)、 $C_7$ - $C_{16}$ アラルキルオキシ(後述する置換分 $\beta^\circ$ を1乃至3個有していてもよい。)、 $C_6$ - $C_{10}$ アリールチオ基(後述する置換分 $\beta^\circ$ を1乃至3個有していてもよい。)、 $C_1$ - $C_6$ 脂肪族アシルオキシ基、窒素原子を含有する4乃至7員飽和複素環基、窒素原子を含有する5乃至6員芳香複素環基、ニトロ基、及びシアノ基からなる群から選択される基を示す。

置換分 $\beta^\circ$ は、ハロゲン原子、水酸基、 $C_1$ - $C_6$ アルキル基、ハロゲン $C_1$ - $C_6$ アルキル基、 $C_1$ - $C_6$ アルコキシ基、アミノ基(後述する置換分 $\gamma^\circ$ を有していてもよい。)、 $C_6$ - $C_{10}$ アリール基、及びニトロ基からなる群から選択される基を示す。

置換分 $\gamma^\circ$ は、 $C_1$ - $C_{10}$ アルキル基、置換されてもよい $C_6$ - $C_{10}$ アリール、置換さ



れてもよい  $C_7-C_{16}$  アラルキル基、 $C_1-C_7$  脂肪族アシル基、置換されてもよい  $C_7-C_{11}$  芳香族アシル、置換されてもよい  $C_8-C_{12}$  芳香脂肪族アシル、置換されてもよい  $C_4-C_{11}$  シクロアルキルカルボニル、及び置換されてもよい窒素原子を含有する 5 乃至 6 員芳香複素環カルボニル基からなる群から選択される基を示す。

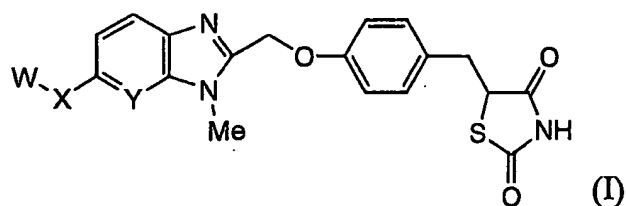
但し、5-[4-[5-(3,5-ジ-*t*-ブチル-4-ヒドロキシフェニルチオ)-3-メチル-3H-イミダゾ[4,5-*b*]ピリジン-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオンは除く。]

を有する置換縮合複素環化合物又はその薬理上許容される塩。

ここで、「置換されてもよい」における置換分は、ハロゲン原子、水酸基、 $C_1-C_6$  アルキル基、ハロゲン  $C_1-C_6$  アルキル基、 $C_1-C_6$  アルコキシ基、及び  $C_1-C_6$  アルキルチオ基から成る群から選択される 1 乃至 3 個の置換分である。

また、本発明の有効成分である PPAR $\gamma$  活性化作用剤としては、以下の化合物も好適である。

一般式(I)



[式中、

Wは、水素原子、 $C_1-C_6$  アルキル基、 $C_8-C_{10}$  アリール基(後述する置換分  $\alpha$  を 1 乃至 5 個有していてもよい。)、単環式複素芳香環基(後述する置換分  $\alpha$  を 1 乃至 4 個有していてもよい。)、又は  $C_7-C_{12}$  アラルキル基(アリール上に後述する置換分  $\alpha$  を 1 乃至 5 個有していてもよい。)を示す。

Xは、酸素原子又は硫黄原子を示す。

Yは、=CH-基又は窒素原子を示す。

置換分 $\alpha$ は、 $C_1$ - $C_6$ アルキル基、 $C_1$ - $C_6$ アルコキシ基、ハロゲン原子、及び水酸基からなる群から選択される基を示す。]

で表されるチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

ここで、「単環式複素芳香環基」とは、窒素原子を1又は2個有する5員又は6員単環式の芳香族性を有する複素環基をいい、例えばピリジル、ピラジル、ピリミジニル、ピリダジニル、ピロリル、イミダゾリル、及びピラゾリルを挙げることができる。

また、上記一般式(I)の構造を有する化合物が置換分 $\alpha$ を2乃至5個有している場合には、当該置換分 $\alpha$ は同一であっても互いに異なってもよい。

上記に示した基の定義より、

Wが「 $C_6$ - $C_{10}$ アリール基(置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。)」を示す場合、当該基としては、例えばフェニル、メチルフェニル、2,3,4-トリメチルフェニル、*t*-ブチルフェニル、ジ-*t*-ブチルフェニル、メトキシフェニル、ジメトキシフェニル、フルオロフェニル、ジフルオロフェニル、ペンタフルオロフェニル、クロロフェニル、ジクロロフェニル、2-, 3-及び4-ヒドロキシフェニル、4-ヒドロキシ-2-メチルフェニル、4-ヒドロキシ-3-メチルフェニル、2-*t*-ブチル-4-ヒドロキシフェニル、3-*t*-ブチル-4-ヒドロキシフェニル、4-ヒドロキシ-2,3-ジメチルフェニル、4-ヒドロキシ-3,5-ジメチルフェニル、4-ヒドロキシ-3,6-ジメチルフェニル、3,5-ジ-*t*-ブチル-4-ヒドロキシフェニル、3,6-ジ-*t*-ブチル-4-ヒドロキシフェニル、4-ヒドロキシ-2,3,5-トリメチルフェニル、4-ヒドロキシ-3,5,6-トリメチルフェニル、2-クロロ-4-ヒドロキシ-3,5-ジメチルフェニル、ナフチル、メチルナフチル、*t*-ブチルナフチル、メトキシナフチル、フルオロナフチル、クロロナフチル、及びヒドロキシナフチルを挙げることができる。

Wが「 $C_7$ - $C_{12}$ アラルキル基(アリール上に置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。)」を示す場合、当該基としては、例えばベンジル、メチルベンジル、*t*-

ブチルベンジル、メトキシベンジル、ヒドロキシベンジル、フルオロベンジル、クロロベンジル、ヒドロキシベンジル、4-ヒドロキシ-3,5-ジメチルベンジル、3,5-ジ-*t*-ブチル-4-ヒドロキシベンジル、フェネチル、メチルフェネチル、*t*-ブチルフェネチル、メトキシフェネチル、ヒドロキシフェネチル、フルオロフェネチル、クロロフェネチル、ヒドロキシフェネチル、4-フェニルブチル、4-(メチルフェニル)ブチル、4-(ヒドロキシフェニル)ブチル、6-(メチルフェニル)ヘキシル、6-フェニルヘキシル、及び6-(ヒドロキシフェニル)ヘキシルを挙げることができる。

上記一般式(I)の構造を有する化合物の製法は、特開平 7-330728 号公報、特開平 9-295970 号公報、又は特開平 11-193276 号公報に記載されている。

上記一般式(I)の構造を有する化合物において、好適には、

(1)

Wが、 $C_1-C_4$ アルキル基、 $C_6-C_{10}$ アリール基(置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。)、単環式複素芳香環基(置換分 $\alpha$ を1乃至3個有していてもよい。)、又は $C_7-C_{12}$ アラルキル基(アリール上に置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。))を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(2)

Wが、 $C_1-C_4$ アルキル基、フェニル基(置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。)、ピリジル基(置換分 $\alpha$ を1乃至3個有していてもよい。)、又はベンジル基(アリール上に置換分 $\alpha$ を1乃至3個有していてもよい。))を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(3)

Wが、 $C_1-C_4$ アルキル基、又はフェニル基(置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。))を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(4)

Wが、フェニル基(置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。))を示すチアゾリ

ジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(5)

Xが、酸素原子を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(6)

Xが、硫黄原子を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(7)

Yが、 $=CH-$ 基を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(8)

Yが、窒素原子を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(9)

置換分 $\alpha$ が、 $C_1-C_6$ アルキル基、ハロゲン原子、及び水酸基からなる群から選択される基を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

(10)

置換分 $\alpha$ が、 $C_1-C_6$ アルキル基、及び水酸基からなる群から選択される基を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

また、上記一般式(I)の構造を有する化合物において、次の化合物も好適である。

(11)

Wが、フェニル基(置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。)を示す。

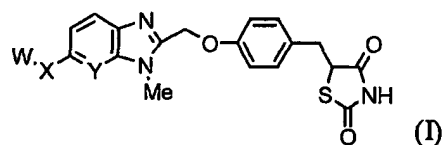
Xは、酸素原子を示す。

Yは、 $=CH-$ 基を示す。

置換分 $\alpha$ が、 $C_1-C_6$ アルキル基、及び水酸基からなる群から選択される基を示す。

す、チアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩。

本発明の PPAR $\gamma$  活性化作用剤として、更に好適には次の化合物を挙げることができるが、本発明の PPAR $\gamma$  活性化作用剤はこれらの化合物に限定されるものではない。



(表 1)

例示 化合物 番号	W	X	Y	例示 化合物 番号	W	X	Y
1	Me	O	=CH-	2		S	N
3		O	=CH-	4		S	=CH-
5		O	=CH-	6		O	=CH-
7		O	=CH-	8		O	=CH-
9		O	=CH-	10		O	=CH-
11		O	=CH-	12		S	N
13		O	=CH-	14		O	N
15		O	=CH-	16		O	=CH-
17		O	=CH-	18		O	=CH-

上記表において、

好適には、例示化合物番号、

- 1 5-[4-(6-メトキシ-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ)ベンジル]  
チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 3 5-[4-[6-(4-ヒドロキシフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメ  
トキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 5 5-[4-[6-(3-ヒドロキシフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメ  
トキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 6 5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-3-メチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール  
-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 9 5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-3,5-ジメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾ  
ール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 10 5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-2,3-ジメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダ  
ゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 13 5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-2,3,5-トリメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイ  
ミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 14 5-[4-[5-(4-ヒドロキシ-2,3,5-トリメチルフェノキシ)-3-メチルイミダゾ  
[5,4-b]ピリジン-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 15 5-[4-[6-(2-クロロ-4-ヒドロキシ-3,5-ジメチルフェノキシ)-1-メチルベ  
ンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 16 5-[4-(6-ペンタフルオロフェノキシ-1-メチルベンズイミダゾール-2-イル  
メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、及び
- 18 5-[4-(6-ベンジルオキシ-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ)  
ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、

並びにその薬理学上許容される塩を挙げることができる。

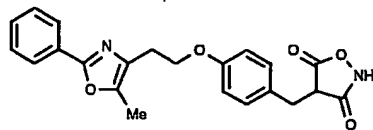
更に好適には、例示化合物番号、

- 1 5-[4-(6-メトキシ-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 6 5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-3-メチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 10 5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-2,3-ジメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 13 5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-2,3,5-トリメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、
- 15 5-[4-[6-(2-クロロ-4-ヒドロキシ-3,5-ジメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、及び
- 18 5-[4-(6-ベンジルオキシ-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、

並びにその薬理学上許容される塩を挙げることができる。

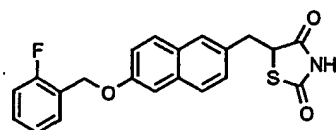
また、次の化合物も本発明の PPAR $\gamma$  活性化作用剤として好適である。

W095/18125 号公報に記載されている、



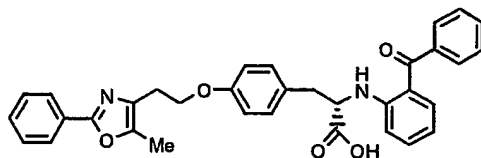
4-[4-[2-(2-フェニル-5-メチル-4-オキサゾリル)エトキシ]ベンジル-3,5-イソオキサゾリジンジオン又はその薬理学上許容される塩。当該化合物の製法は、W095/18125 号公報に記載されており、当該化合物が PPAR $\gamma$  を活性化することは、J.Terasaki et al, Diabetologia, 41(4), pp400-409(1998)に記載されている。

特開平 6-247945 号公報に記載されている、



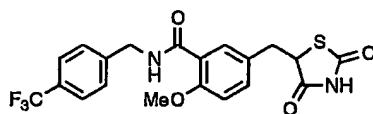
5-[6-(2-フルオロベンジルオキシ)-2-ナフチル]メチル-2,4-チアゾリジンジオン又はその薬理学上許容される塩。当該化合物の製法は、特開平 6-247945 号公報に記載されており、当該化合物が PPAR  $\gamma$  を活性化することは、Mauricio J. Reginato et al, J. Bio. Chem, 273(49), pp32679-32684(1998)に記載されている。

W097/31907 号公報に記載されている、



2(S)-(2-ベンゾイルフェニルアミノ)-3-[4-[2-(5-メチル-2-フェニルオキシソール-4-イル)エトキシ]フェニル]プロピオン酸又はその薬理学上許容される塩。当該化合物の製法及び当該化合物が PPAR  $\gamma$  活性化作用を有することは、W097/31907 号公報に記載されている。

特開平 9-48771 号公報に記載されている、



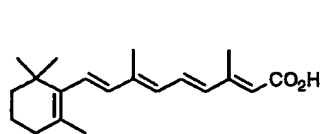
N-(4-トリフルオロメチルベンジル)-5-(2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イル)メチル-2-メトキシベンズアミド又はその薬理学上許容される塩。当該化合物の製法は、特開平 9-48771 号公報に記載されており、当該化合物が PPAR  $\gamma$  を活性化することは、K. Murakami et al, Diabetes, 47, pp1841-1847(1998)に記載されている。



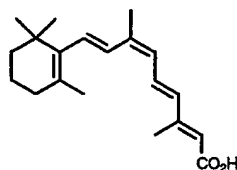
本発明の一方の有効成分である RXR 活性化作用剤は、RXR と結合することにより、レチノイン酸やレチノイン酸様の生理活性を有する化合物(レチノイド)の作用を増強する作用を有する化合物である。

本発明の有効成分である RXR 活性化作用剤としては、代表的なものとして、例えば J.Thibonnet et al, Synlett, 1, pp141-143(1999)、特開平 6-107542 号公報、及び W094/15901 号公報に記載されている化合物を挙げることができる。

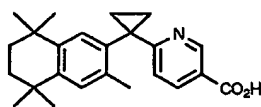
以下に本発明の有効成分である RXR 活性化作用剤として代表的な化合物の構造式を示す。



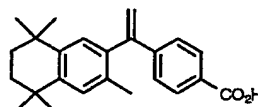
ATRA



9-シス-レチノイン酸



LG100268



タルグレチン

ATRA の化合物名は、(E,E,E,E)-3,7-ジメチル-9-[2,6,6-トリメチル-1-シクロヘキセン-1-イル]-2,4,6,8-ノナテトラエン酸 (オールトランス-レチノイン酸) である。ATRA の製法は、J.Thibonnet et al, Synlett, 1, pp141-143(1999)に記載されており、ATRA がそのまま或いはその一部が 9-シス-レチノイン酸に変換されることにより RXR に作用することが、特表平 10-511948 号公報に記載されている。

9-シス-レチノイン酸は、特開平 6-107542 号公報に記載され、その化合物名は、(E,Z,E,E)-3,7-ジメチル-9-[2,6,6-トリメチル-1-シクロヘキセン-1-イル]-2,4,6,8-ノナテトラエン酸 (9-シス-レチノイン酸) である。9-シス-レチノイン酸の製法及び 9-シス-レチノイン酸が RXR 活性化作用剤であることは、M.F.Boehm

et al, J. Med. Chem., 37, pp408-414(1994)に記載されている。

LG100268 は、W094/15901 号公報に記載され、その化合物名は 6-[1-(3,5,5,8,8-ペンタメチル-5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン-2-イル)シクロプロピル]ニコチン酸である。当該化合物の製法及び当該化合物が RXR 活性化作用剤であることは、W094/15901 号公報に記載されている。

タルグレチンは、W094/15901 号公報に記載され、その化合物名は 6-[1-(3,5,5,8,8-ペンタメチル-5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン-2-イル)エテニル]安息香酸である。当該化合物の製法及び当該化合物が RXR 活性化作用剤であることは、W094/15901 号公報に記載されている。

本発明の有効成分である PPAR $\gamma$  活性化作用剤及び RXR 活性化作用剤は、常法に従って塩にすることができる。そのような塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩のようなアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩；アルミニウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、ニッケル塩、コバルト塩等の金属塩；アンモニウム塩のような無機塩；*t*-オクチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、グルコサミン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレンジアミン塩、*N*-メチルグルカミン塩、グアニジン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、*N,N'*-ジベンジリエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、プロカイン塩、ジエタノールアミン塩、*N*-ベンジル-*N*-フェネチルアミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩のような有機塩等のアミン塩；フッ化水素酸、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸のようなハロゲン化水素酸塩；硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、エタンスルホン酸のような低級アルカンスルホン酸の塩；ベンゼンスルホン酸、*p*-トルエンスルホン酸等のようなアリールスルホン酸塩；グルタミン酸、アスパラギン酸等のようなアミノ酸の塩；フマル酸、

コハク酸、クエン酸、酒石酸、シュウ酸、マレイン酸のようなカルボン酸の塩等の有機酸；及びオルニチン酸塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩を挙げることができ、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤の塩として好適にはハロゲン化水素酸塩又は有機酸塩であり、更に好適には塩酸塩である。

また、本発明の化合物は、大気中に放置しておいたり、再結晶することにより、水分を吸収し、吸着水が付いたり、水和物となる場合があり、そのような溶媒和物を形成する場合には、これら全て本発明に包含される。

更に、本発明の化合物は、他のある種の溶媒を吸収し、溶媒和物となる場合があるが、そのようなものも本発明に包含される。

本発明の有効成分であるPPAR $\gamma$ 活性化作用剤及びRXR活性化作用剤には種々の異性体が存在する場合がある。例えば、前記一般式(I)の構造を有するチアゾリジンジオン化合物のチアゾリジン環は不斉炭素を含み、また、置換基上にも不斉炭素が存在する場合があるので、光学異性体を有する。これら異性体の各々、或はそれらの任意の割合の化合物いずれも本発明に包含される。

そのような異性体は、各々の異性体の原料化合物を用いて本発明の化合物を合成するか又は合成した本発明の化合物を所望により通常の分割法若しくは分離法を用いて分割することにより得ることができる。

更に、本発明には生体内において代謝されて本発明の化合物又は薬理上許容される塩に変換される化合物、いわゆるプロドラッグも全て含むものである。当該プロドラッグとしては、例えば、本発明の一般式(I)を有する化合物がフェノール性水酸基を有する場合に、当該水酸基が生体内で加水分解のような生物学的方法により開裂し得る保護基により保護された化合物をいう。

「生体内で加水分解のような生物学的方法により開裂し得る保護基」とは、人体内で加水分解等の生物学的方法により開裂し、フリーのフェノール性水酸基又はその塩を生成する保護基をいい、そのような誘導体か否かは、ラットやマウス

のような実験動物に静脈注射により投与し、その後の動物の体液を調べ、元となる化合物又はその薬理学的に許容される塩を検出することにより決定できる。

このような保護基としては、例えばホルミルオキシメチル、アセトキシメチル、ジメチルアミノアセトキシメチル、プロピオニルオキシメチル、ブチリルオキシメチル、ピバロイルオキシメチル、1-ホルミルオキシエチル、1-アセトキシエチル、1-プロピオニルオキシエチル、1-ブチリルオキシエチル、1-ピバロイルオキシエチルのような 1-(低級脂肪族アシルオキシ)低級アルキル基；メトキシカルボニルオキシメチル、エトキシカルボニルオキシメチル、プロポキシカルボニルオキシメチル、イソプロポキシカルボニルオキシメチル、ブトキシカルボニルオキシメチル、イソブトキシカルボニルオキシメチル、1-(メトキシカルボニルオキシ)エチル、1-(エトキシカルボニルオキシ)エチル、1-(プロポキシカルボニルオキシ)エチル、1-(イソプロポキシカルボニルオキシ)エチル、1-(ブトキシカルボニルオキシ)エチル、1-(イソブトキシカルボニルオキシ)エチル、1-(*t*-ブトキシカルボニルオキシ)エチルのような 1-(低級アルコキシカルボニルオキシ)アルキル基；及びフタリジル、ジメチルフタリジル、ジメトキシフタリジルのようなフタリジル基を挙げることができる。

本発明における癌の予防及び治療は、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤及び RXR 活性化作用剤を併用して用いることにより行われる。即ち、1種又は2種以上の PPAR $\gamma$ 活性化作用剤と1種又は2種以上の RXR 活性化作用剤とを、同時に又は逐次的に使用することにより、各々の単剤と比べ優れた効果を示すものである。

ここで「同時に」とは、1種又は2種以上の PPAR $\gamma$ 活性化作用剤と1種又は2種以上の RXR 活性化作用剤とを、配合剤の形態で又はこれらの薬剤を物理的に混合することが好ましくない場合にはこれらの薬剤を個々に、同時に投与することをいう。

「逐次的に」とは、個々の単剤を適当な間隔をおいて相前後して投与すること

をいう。

また、投与すべき1種又は2種以上のPPAR $\gamma$ 活性化作用剤と1種又は2種以上のRXR活性化作用剤が合わせて3種以上ある場合には、「同時に又は逐次的に」とは、それらを同時に又は逐次的に投与してもよく、2種以上を同時に投与し残りの薬剤を逐次的に投与したり、或いは2種以上を逐次的に投与し残りの薬剤を同時に投与してもよい。

また、ここでいう癌とは、肉腫・癌種・白血病等を指し、これらには、繊維肉腫・脂肪肉腫・骨肉腫・血管肉腫・肺癌・胃癌・大腸癌・乳癌・前立腺癌・腎臓癌・肝臓癌・膵臓癌・食道癌・舌癌・脳腫瘍・喉頭癌・膀胱癌・卵巣癌・急性白血病・慢性白血病・リンパ腫等が含まれる。

本発明PPAR $\gamma$ 活性化作用剤及びRXR活性化作用剤である薬剤は、それ自体或は適宜の薬理学的に許容される賦形剤、滑沢剤等と混合し、例えば散剤・顆粒剤・錠剤・カプセル剤等による経口的又は注射剤若しくは坐剤等による非経口的に投与することができる。

ここで、「賦形剤」としては、例えば乳糖、白糖、葡萄糖、マンニトール、ソルビトールのような糖誘導体；トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、 $\alpha$ 澱粉、デキストリンのような澱粉誘導体；結晶セルロースのようなセルロース誘導体；アラビアゴム；デキストラン；プルランのような有機系賦形剤；軽質無水珪酸、合成珪酸アルミニウム、珪酸カルシウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウムのような珪酸塩誘導体；燐酸水素カルシウムのような燐酸塩；炭酸カルシウムのような炭酸塩；硫酸カルシウムのような硫酸塩等の無機系賦形剤を挙げることができる。

「滑沢剤」としては、例えばステアリン酸、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウムのようなステアリン酸金属塩；タルク；コロイドシリカ；ビーガム、ゲイ蠟のようなワックス類；硼酸；アジピン酸；硫酸ナトリウムのような

な硫酸塩；グリコール；フマル酸；安息香酸ナトリウム；DLロイシン；脂肪酸ナトリウム塩；ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウムのようなラウリル硫酸塩；無水珪酸、珪酸水和物のような珪酸類；上記澱粉誘導体を挙げることができる。

本発明において使用されるPPAR $\gamma$ 活性化作用剤とRXR活性化作用剤である薬剤の投与形態は、好適には経口的投与である。従って、2系統の薬剤は、それぞれ単独で別々の単位投与形態に、又は混合して物理的に1個の単位投与形態に調整することができる。

本発明において使用されるPPAR $\gamma$ 活性化作用剤とRXR活性化作用剤の投与量と投与比率は、個々の薬剤の活性・患者(温血動物、特に人間)の症状・年齢・体重等の種々の条件により大幅に変化し得るが、一般的に、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤及びRXR活性化作用剤のそれぞれの1回当りの経口投与量は、下限として0.005 mg/kg 体重(好ましくは、0.05 mg/kg 体重)、上限として、500 mg/kg 体重(好ましくは、50 mg/kg 体重)を、静脈内投与の場合には、1回当り、下限として0.001 mg/kg 体重(好ましくは、0.01 mg/kg 体重)、上限として、50 mg/kg 体重(好ましくは、5 mg/kg 体重)を1日当り1乃至数回症状に応じて投与することが望ましい。

また、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤とRXR活性化作用剤の投与比率も大幅に変わりうるが、一般的に、重量比で1:200乃至200:1の範囲内であり得る。

(発明を実施するための最良の形態)

#### 実施例1 PPAR $\gamma$ 活性化作用

CHO細胞(チャイニーズハムスターオパリアン細胞)にPPAR $\gamma$ 応答性遺伝子(脂肪細胞分化マーカー遺伝子であるaP2のエンハンサー領域)を導入したaP2-12細胞を用いたルシフェラーゼアッセイと呼ばれるレポーターアッセイにより、

PPAR $\gamma$ 活性化作用を測定した。

aP2-12 細胞を 96 ウェルプレートに  $2 \times 10^4$  cell/ウェル播種し、同時に DMSO に溶解した各種濃度の試験化合物を DMSO 濃度が 0.1% になるように添加した。試験化合物の濃度は 1nM、10nM、100nM、1 $\mu$ M、10 $\mu$ M とした。試験化合物を添加後、細胞を 24 時間培養し、PBS (リン酸緩衝食塩水) で洗浄後、30 $\mu$ l のピッカジーン細胞溶解液(東洋インキ社)を用いて細胞溶解液を調整した。その後、細胞溶解液 10 $\mu$ l を Microlite 1 白色プレート (DYNEX TECHNOLOGIES 社) に分注し、各ウェルに 50 $\mu$ l のピッカジーン発光基質液 (東洋インキ社) を添加することによってルシフェラーゼ活性を測定した。測定はルミノメーター ML3000 (Dynatech Laboratorie 社) を用い、発光基質液添加 2 秒後から 10 秒間の発光量を測定した。得られた発光量から飽和発光量の 1/2 量を示す試験化合物の濃度をエクセル (マイクロソフト社)

を用いて 1 次関数近似値として計算し、試験化合物の PPAR $\gamma$  活性化作用における  $EC_{50}$  値 ( $\mu$ M) を求めた。

(表 2)。

試験化合物	PPAR $\gamma$ 活性化作用 の $EC_{50}$ 値 ( $\mu$ M)
トログリタゾン	0.90
ロジグリタゾン	0.14
ピオグリタゾン	0.73
例示化合物番号 1 塩酸塩	0.042
2	0.0088
3	0.0034

4 塩酸塩	0.008
5 塩酸塩	0.004
6 塩酸塩	0.0026
7 塩酸塩	0.0072
8 塩酸塩	0.0067
9 塩酸塩	0.003
1 0 塩酸塩	0.0025
1 1 塩酸塩	0.0073
1 2	0.0097
1 3 塩酸塩	0.0022
1 4 塩酸塩	0.0036
1 5 塩酸塩	0.0027
1 6 塩酸塩	0.0034
1 7	0.0065
1 8 塩酸塩	0.0064

表 2 から明らかなように、本発明の PPAR $\gamma$  活性化作用剤は、トログリタゾン、ロジグリタゾン及びピオグリタゾンよりも優れた PPAR $\gamma$  活性化作用を示すものである。

従って、本発明の PPAR $\gamma$  活性化作用剤と RXR 活性化作用剤との併用からなる薬剤は、トログリタゾン、ロジグリタゾン又はピオグリタゾンと RXR 活性化作用剤との併用からなる薬剤よりも、優れた癌細胞増殖抑制作用を有することが示唆されるものである。

#### 実施例 2 ヒト急性前骨髄性白血病細胞株 HL-60 細胞に対する抗腫瘍効果の増強

1 群 9 匹の BALB/c ノードマウス(雌性、6 週齢)の皮下に、ヒト急性前骨髄性白



血病細胞株 HL-60 の腫瘍片(5mm×5mm 角)を移植した。被検化合物は、2.5%ジメチルアセトアミド含有 5%エマルフォア生食にて懸濁し、移植翌日～4日、7日～11日、14日～18日目に1日1回、計14回経口投与した。

効果の判定は腫瘍の短径(mm)及び長径(mm)を電子デジタルノギスで計測し、以下に示す計算式により移植後21日目の腫瘍増殖抑制率(GI%)で評価した。

$$GI(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A：化合物投与群の21日目の平均腫瘍体積(\*)

B：無処置対照群の21日目の平均腫瘍体積(\*)

\*：腫瘍体積とは、 $1/2 \times [\text{腫瘍長径}] \times [\text{腫瘍短径}]^2$ をいう。

結果を表3にまとめた。

(表3)

	被検化合物	投与量(mg/kg)	GI(%)
PPAR活性化作用剤	例示化合物1塩酸塩	5	24
RXR特異的リガンド	タルグレチン	100	-23
併用投与	例示化合物1塩酸塩 +	5	54
	タルグレチン	100	

表3から、ヒト急性前骨髄性白血病細胞の増殖は、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤である例示化合物1の塩酸塩及びRXR活性化作用剤であるタルグレチンそれぞれの単剤投与よりも、両化合物の併用投与により顕著に抑制されることが明らかとなった。

即ち、表3によれば、タルグレチンの単独投与は、ヒト急性前骨髄性白血病細胞の増殖抑制には効果を示していない。しかし、タルグレチンは、例示化合物1の塩酸塩と併用することにより、例示化合物1の塩酸塩の単独投与によるヒト急性前骨髄性白血病細胞の増殖抑制効果を明らかに増強している。従って、実施例

2の実験結果は、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤とRXR活性化作用剤との併用による相乗的な癌細胞増殖抑制効果を示すものである。

### 実施例3 ヒト胃癌株 St-40 細胞に対する抗腫瘍効果の増強

1群 10匹のBALB/cヌードマウス(雌性、6週齢)の皮下に、ヒト胃癌株 St-40の腫瘍片(5mm×5mm 角)を移植した。被検化合物は、2.5%ジメチルアセトアミド含有5%エマルフォア生食にて懸濁し、移植翌日～4日、7日～11日、14日～18日目、21日～25日目に1日1回、計19回経口投与した。

効果の判定は腫瘍の短径(mm)及び長径(mm)を電子デジタルノギスで計測し、実施例1と同じく移植後28日目の腫瘍増殖抑制率(GI%)を算出した。

結果を表4にまとめた。

(表4)

	被検化合物	投与量(mg/kg)	GI(%)
PPAR活性化作用剤	例示化合物1塩酸塩	10	20
RXR特異的リガンド	LG100268	10	3
併用投与	例示化合物1塩酸塩	10	32
	+	10	
	LG100268	10	

表4から、ヒト胃癌細胞の増殖は、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤である例示化合物1の塩酸塩及びRXR活性化作用剤であるLG100268それぞれの単剤投与よりも、両化合物の併用投与により顕著に抑制されることが明らかとなった。

即ち、表4によれば、LG100268の単独投与は、ヒト胃癌細胞の増殖抑制にはほとんど効果を示していない。しかし、例示化合物1の塩酸塩と併用することにより、例示化合物1の塩酸塩の単独投与によるヒト胃癌細胞の増殖抑制効果を明ら

かに増強している。従って、実施例3の実験結果は、PPAR $\gamma$ 活性化作用剤と RXR 活性化作用剤との併用による相乗的な癌細胞増殖抑制効果を示すものである。

#### 実施例4 ヒト急性前骨髄性白血病細胞 HL-60 に対する癌細胞増殖抑制活性の増強

HL-60 細胞を 96well プレートに  $1 \times 10^3$  cells/well 播種し、同時に DMSO に溶解した各種濃度の薬剤を DMSO 濃度が 0.1% になるように添加した。薬剤の濃度は PPAR $\gamma$  活性化剤として例示化合物 18 を 10  $\mu$ M、RXR 活性化剤として LG100268 を 1  $\mu$ M で検討した (n=4)。薬剤を添加後、細胞は 5 日間培養した。その後、MTS (プロメガ (株)) 試薬を各 40  $\mu$ l/well 添加し、37°C、5%CO<sub>2</sub> 下で 2 時間培養後、各 well の OD<sub>490</sub> を MICROPLATE READER (BIO RAD) を用いて測定した。細胞増殖抑制活性は、各群の平均吸光度から下記の式により算出した。

$$\text{癌細胞増殖抑制率 (\%)} = [1 - (\text{平均吸光度 (細胞+薬剤)} - \text{平均吸光度 (培地)}) / (\text{平均吸光度 (細胞+DMSO)} - \text{平均吸光度 (培地)})] \times 100$$

結果は表5に示した。

(表5)

	被検化合物	癌細胞増殖抑制率 (%)
PPAR活性化作用剤	例示化合物18	40
RXR特異的リガンド	LG100268	18
併用投与	例示化合物18 +	58
	LG100268	

表5から、ヒト急性前骨髄性白血病細胞の増殖は PPAR $\gamma$  活性化剤である例示化

化合物 18 及び RXR 活性化剤である LG100268 それぞれの単剤投与よりも、両化合物の併用投与により顕著に抑制されることが明らかとなった。

#### 実施例 5 ヒト大腸癌細胞 COL-2-JCK に対する癌細胞増殖抑制活性の増強

COL-2-JCK 細胞を 96well プレートに  $4 \times 10^3$  cells/well 播種し、同時に DMSO に溶解した各種濃度の薬剤を DMSO 濃度が 0.1% になるように添加した。薬剤の濃度は PPAR $\gamma$  活性化剤として例示化合物 18 を 10  $\mu$ M、RXR 活性化剤としてタルグレチンあるいは LG100268 を 10  $\mu$ M で検討した (n=4)。薬剤を添加後、細胞は 4 日間培養した。その後、50%トリクロロ酢酸 (和光純薬工業) を各 50  $\mu$ l/well 添加して 1 時間 4°C で固定し、水道水で洗浄後、0.4%スルホローダミン B (Molecular Probe 社) -1%酢酸溶液を 150  $\mu$ l/well 添加して室温で 30 分染色し、1%酢酸で洗浄した。プレートを風乾した後に 10mM トリスを 150  $\mu$ l/well 添加し、各 well の OD<sub>490</sub> を MICROPLATE READER (BIO RAD) を用いて測定した。細胞増殖抑制活性は、各群の平均吸光度から下記の式により算出した。

$$\text{癌細胞増殖抑制率 (\%)} = [1 - (\text{平均吸光度 (細胞+薬剤)} - \text{平均吸光度 (培地)}) / (\text{平均吸光度 (細胞+DMSO)} - \text{平均吸光度 (培地)})] \times 100$$

結果は表 6 に示した。

(表 6)

	被検化合物	癌細胞増殖抑制率(%)
PPAR活性化作用剤	例示化合物18	14
RXR特異的リガンド	LG100268	2
併用投与	例示化合物18 +	37
	LG100268	
RXR特異的リガンド	タルグレチン	7
併用投与	例示化合物18 +	40
	タルグレチン	

表 6 から、ヒト大腸癌細胞の増殖は PPAR $\gamma$  活性化剤である例示化合物 18 及び RXR 活性化剤である LG100268 又はタルグレチンそれぞれの単剤投与よりも、両活性化剤の併用投与により顕著に抑制されることが明らかとなった。

#### 製剤例

本発明の化合物を有効成分とする薬剤は、例えば次の方法により製造することができる。

#### 錠剤

5-[4-(6-メトキシ-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン塩酸塩(例示化合物 1 の塩酸塩) 4.0mg、タルグレチン 100.0mg、乳糖 244.0mg、トウモロコシデンプン 50.0g 及びステアリン酸マグネシウム 2.0mg の粉末を混合した後、打錠機により打錠すると 1 錠 400mg の錠剤が得られる。

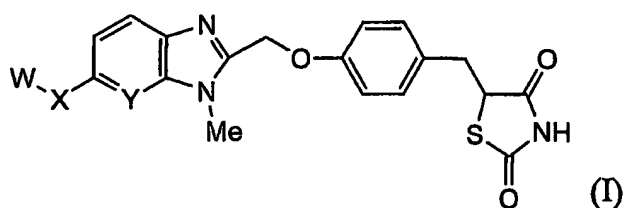
(産業上の利用の可能性)

本発明の、1種又は2種以上の PPAR $\gamma$  活性化作用剤及び1種又は2種以上の RXR 活性化作用剤とを同時に又は逐次的に使用することによる医薬組成物は、癌 (特に、人間の癌) を予防及び治療するにあたり有用である。

即ち本発明は、新規な抗腫瘍性物質として、1種又は2種以上の PPAR $\gamma$  活性化作用剤及び1種又は2種以上の RXR 活性化作用剤とを同時に又は逐次的に使用することによる、医薬組成物を提供するものである。

## 請求の範囲

1. 癌を予防又は治療するための、1種又は2種以上のPPAR $\gamma$ 活性化作用剤及び1種又は2種以上のRXR活性化作用剤とを同時に又は逐次的に使用することによる、医薬組成物。
2. 請求項1において、  
PPAR $\gamma$ 活性化作用剤が、一般式(I)



[式中、

Wは、水素原子、 $C_1$ - $C_6$ アルキル基、 $C_6$ - $C_{10}$ アリール基(後述する置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。)、単環式複素芳香環基(後述する置換分 $\alpha$ を1乃至4個有していてもよい。)、又は $C_7$ - $C_{12}$ アラルキル基(アリール上に後述する置換分 $\alpha$ を1乃至5個有していてもよい。)を示す。

Xは、酸素原子又は硫黄原子を示す。

Yは、 $=CH-$ 基又は窒素原子を示す。

置換分 $\alpha$ は、 $C_1$ - $C_6$ アルキル基、 $C_1$ - $C_6$ アルコキシ基、ハロゲン原子、及び水酸基からなる群から選択される基を示す。]で表されるチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩である癌を予防又は治療するための医薬組成物。

3. 請求項2において、  
Wが、 $C_1-C_4$ アルキル基、又はフェニル基(置換分 $\alpha$ を1乃至5個有しているもよい。)を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩である癌を予防又は治療するための医薬組成物。
4. 請求項2において、  
Wが、フェニル基(置換分 $\alpha$ を1乃至5個有しているもよい。)を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩である癌を予防又は治療するための医薬組成物。
5. 請求項2乃至請求項4から選択されるいずれか1項において、  
Xが、酸素原子を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩である癌を予防又は治療するための医薬組成物。
6. 請求項2乃至請求項5から選択されるいずれか1項において、  
Yが、 $=CH-$ 基を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩である癌を予防又は治療するための医薬組成物。
7. 請求項2乃至請求項6から選択されるいずれか1項において、  
置換分 $\alpha$ が、 $C_1-C_6$ アルキル基、ハロゲン原子、及び水酸基からなる群から選択される基を示すチアゾリジンジオン化合物又はその薬理学上許容される塩である癌を予防又は治療するための医薬組成物。
8. 請求項1において、  
PPAR $\gamma$ 活性化作用剤が、



5-[4-(6-メトキシ-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、

5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-3-メチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、

5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-2,3-ジメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、

5-[4-[6-(4-ヒドロキシ-2,3,5-トリメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、

5-[4-[6-(2-クロロ-4-ヒドロキシ-3,5-ジメチルフェノキシ)-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ]ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、  
若しくは、

5-[4-(6-ベンジルオキシ-1-メチルベンズイミダゾール-2-イルメトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2,4-ジオン、

又はその薬理学上許容される塩である癌を予防又は治療するための医薬組成物。

9. 請求項1において、

PPAR $\gamma$ 活性化作用剤が、

4-[4-[2-(2-フェニル-5-メチル-4-オキサゾリル)エトキシ]ベンジル-3,5-イソオキサゾリジンジオン、

5-[6-(2-フルオロベンジルオキシ)-2-ナフチル]メチル-2,4-チアゾリジンジオン、

2(S)-(2-ベンゾイルフェニルアミノ)-3-[4-[2-(5-メチル-2-フェニルオキサゾール-4-イル)エトキシ]フェニル]プロピオン酸、若しくは、

N-(4-トリフルオロメチルベンジル)-5-(2,4-ジオキソチアゾリジン-5-

イル)メチル-2-メトキシベンズアミド、  
又はその薬理学上許容される塩である癌を予防又は治療するための医薬組成物。

10. 請求項1乃至請求項9から選択されるいずれか1項において、  
RXR 活性化作用剤が、ATRA、9-シス-レチノイン酸、LG100268 又はタルグレチンである癌を予防又は治療するための医薬組成物。
11. 請求項1乃至請求項9から選択されるいずれか1項において、  
RXR 活性化作用剤が、LG100268 又はタルグレチンである癌を予防又は治療するための医薬組成物。
12. 癌を予防又は治療するための医薬を製造するための、請求項1乃至11のいずれか1項に記載の医薬組成物の使用。
13. 請求項1乃至11のいずれか1項に記載の医薬組成物の、薬理的な有効量を温血動物に投与する癌の予防方法又は治療方法。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07037

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl. <sup>7</sup> A61K45/00, 31/427, 4439, 422, 421, 426, 202, 192, 455, A61P35/00 // C07D417/12, 471/04, 417/04, 413/12, 277/34, 263/32																	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																	
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. <sup>7</sup> A61K45/00, 31/427, 4439, 422, 421, 426, 202, 192, 455, A61P35/00, C07D417/12, 471/04, 417/04, 413/12, 277/34, 263/32																	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)																	
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X Y</td> <td>WO 98/25598 A1 (Dana-Farber Cancer Institute, Inc.), 18 June, 1998 (18.06.98), especially, Claims &amp; JP 2001-510462 A &amp; EP 948324 A2 &amp; US 6242196 A</td> <td>1,12 2-11</td> </tr> <tr> <td>X Y</td> <td>WO 00/30628 A1 (Genentech, Inc.), 02 June, 2000 (02.06.00), especially, Claims &amp; EP 1143953 A2</td> <td>1,12 2-11</td> </tr> <tr> <td>X Y</td> <td>WO 98/29113 A1 (The Salk Institute for Biological Studies), 09 July, 1998 (09.07.98), especially, Claims &amp; JP 2001-507706 A &amp; EP 963199 A1</td> <td>1,12 2-11</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 99/18081 A1 (Sankyo Company, Limited), 15 April, 1999 (15.04.99), &amp; JP 11-193276 A &amp; EP 1022272 A1</td> <td>2-11</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X Y	WO 98/25598 A1 (Dana-Farber Cancer Institute, Inc.), 18 June, 1998 (18.06.98), especially, Claims & JP 2001-510462 A & EP 948324 A2 & US 6242196 A	1,12 2-11	X Y	WO 00/30628 A1 (Genentech, Inc.), 02 June, 2000 (02.06.00), especially, Claims & EP 1143953 A2	1,12 2-11	X Y	WO 98/29113 A1 (The Salk Institute for Biological Studies), 09 July, 1998 (09.07.98), especially, Claims & JP 2001-507706 A & EP 963199 A1	1,12 2-11	Y	WO 99/18081 A1 (Sankyo Company, Limited), 15 April, 1999 (15.04.99), & JP 11-193276 A & EP 1022272 A1	2-11
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
X Y	WO 98/25598 A1 (Dana-Farber Cancer Institute, Inc.), 18 June, 1998 (18.06.98), especially, Claims & JP 2001-510462 A & EP 948324 A2 & US 6242196 A	1,12 2-11															
X Y	WO 00/30628 A1 (Genentech, Inc.), 02 June, 2000 (02.06.00), especially, Claims & EP 1143953 A2	1,12 2-11															
X Y	WO 98/29113 A1 (The Salk Institute for Biological Studies), 09 July, 1998 (09.07.98), especially, Claims & JP 2001-507706 A & EP 963199 A1	1,12 2-11															
Y	WO 99/18081 A1 (Sankyo Company, Limited), 15 April, 1999 (15.04.99), & JP 11-193276 A & EP 1022272 A1	2-11															
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.																	
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																	
Date of the actual completion of the international search 12 November, 2001 (12.11.01)		Date of mailing of the international search report 27 November, 2001 (27.11.01)															
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer															
Facsimile No.		Telephone No.															

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07037

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 97/31907 A1 (Nippon Glaxo Ltd., K.T.I. Group B.V., Motorola Inc.), 04 September, 1997 (04.09.97), & EP 888317 A1 & JP 12-507216 A	9
Y	WO 94/15901 A1 (Ligand Pharmaceuticals Inc.), 21 July, 1994 (21.07.94), & AU 9462258 A	10-11

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07037

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claim 13 pertains to methods for treatment of the human body by therapy and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO1/07037

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K45/00, 31/427, 4439, 422, 421, 426, 202, 192, 455, A61P35/00 //  
C07D417/12, 471/04, 417/04, 413/12, 277/34, 263/32

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K45/00, 31/427, 4439, 422, 421, 426, 202, 192, 455, A61P35/00,  
C07D417/12, 471/04, 417/04, 413/12, 277/34, 263/32

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	WO 98/25598 A1 (ダナ・ファーバー・キャンサー・ インスティテュート), 18. 6月. 1998 (18. 06. 98) 特に特許請求の範囲 & JP 2001-510462 A & EP 948324 A2 & US 6242196 A	1, 12 2-11
X Y	WO 00/30628 A1 (ジェネンテック インコーポレー テッド), 2. 6月. 2000 (02. 06. 00), 特に特許請 求の範囲 & EP 1143953 A2	1, 12 2-11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

12. 11. 01

国際調査報告の発送日

27.11.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上條 のぶよ

4C

9454

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	WO 98/29113 A1 (ザ ソールク イン스티テュート フォア バイオロジカル スタディズ), 9. 7月. 1998 (09. 07. 98), 特に特許請求の範囲 & JP 2001 -507706 A & EP 963199 A1	1, 12 2-11
Y	WO 99/18081 A1 (三共株式会社), 15. 4月. 1 999 (15. 04. 99) & JP 11-193276 A & EP 1022272 A1	2-11
Y	WO 97/31907 A1 (グラクソ、グループ、リミテッ ド), 04. 9月. 1997 (04. 09. 97) & EP 8 88317 A1 & JP 12-507216 A	9
Y	WO 94/15901 A1 (リガンド ファーマシューティカ ルズ), 21. 7月. 1994 (21. 07. 94) & AU 9462258 A	10-11

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 13 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求の範囲13は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。

2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。